



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑳ Aktenzeichen: P 41 08 746.1
㉑ Anmeldetag: 18. 3. 91
㉒ Offenlegungstag: 24. 9. 92

DE 41 08 746 A 1

㉑ Anmelder:
Lindner, Wolfgang, Dr., Graz, AT

㉒ Vertreter:
Manitz, G., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.; Finsterwald, M.,
Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing., 8000 München;
Rotermund, H., Dipl.-Phys., 7000 Stuttgart; Heyn, H.,
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anwälte, 8000 München

㉓ Erfinder:
gleich Anmelder

㉔ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht zu ziehende Druckschriften:

DE 40 19 996 A1
CH 38 76 93B
US 28 81 079

APELT, Jürgen: Chemische Beseitigung uner-
wünschter Stoffe. In: Die Mühle + Mischfutter,
126.Jg., H.30, 27.Juli 1989, S.435-436;

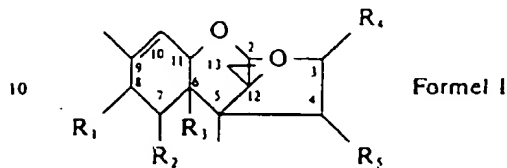
㉕ Dekontamination und Detoxifikation von Getreide, welches mit Trochothecen-Mykotoxinen belastet ist

㉖ Ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Dekontamination
und Detoxifikation von Substanzen, insbesondere von Ge-
treide zeichnet sich dadurch aus, daß die Substanz bzw. das
Getreide einer Ultraschallbehandlung in wäßrigem Milieu
unterzogen wird. Es hat sich nämlich überraschenderweise
herausgestellt, daß eine solche Behandlung zu einer effekti-
ven Dekontamination bzw. Detoxifikation führt, ohne die
entgifteten Substanzen, vor allem Getreideprodukte hin-
sichtlich ihres Aussehens, Geschmacks und Nährwertes zu
beeinträchtigen.

DE 41 08 746 A 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Dekontamination und Detoxifikation von Substanzen, insbesondere von Getreide, im besonderen Mais, Weizen, Hafer, Gerste, Roggen, welches mit tetracyclischen Trichothecen-Mykotoxinen der allgemeinen Grundformel,



15 wobei durch Substitutionsvariation der Restester R_1 bis R_5 die verschiedenen Trichothecen-Mykotoxine, wie z. B. T-2 Toxin (T-2), HT-2 Toxin (HT-2), Diacetoxyscirpenol (DAS) Monoacetoxyscirpenol, Neosolaniol, Nivalenol (NIV), Deoxynivalenol (DON), 3-Acetyldeoxynivalenol (3-AcDON), T-2 Tetraol, Scirpentriol, Fusarenol, Crocacin, Satratoxin H etc., zu beschreiben sind, belastet ist.

20 Trichothecene sind sesquiterpenoide Verbindungen mit einer C_{12} , C_{13} -Spiroepoxy-Gruppierung, welche von Pilzen wie Fusarium, Trichoderma, Myrothecium, Staehybotrys und anderen produziert werden. Verschiedene Getreidearten, im besonderen Mais, Weizen, Hafer, Gerste und Roggen, werden je nach Sortenwahl, klimatischen Gegebenheiten und Bodenbeschaffenheit von diesen Pilzen befallen und auf diese Weise mit sekundären Stoffwechselprodukten, den Mykotoxinen, wie z. B. vom Trichothecen-Typus, kontaminiert. Diese Mykotoxine rufen verschiedenartige Trichothecen-Toxikosen, sowohl bei Tieren, wenn das befallene Getreide als Futtermittel eingesetzt wird, als auch beim Menschen hervor. Die verschiedenen Trichothecene wirken in unterschiedlichen Konzentrationen zellschädigend, neurotoxisch, dermatotoxisch und führen zu Futterverweigerung, Erbrechen und Diarrhoe. Speziell über Futtermittel bzw. Futtermittelgetreide, das auch eine geringe Mykotoxinbelastung aufweist, können über einem längeren Zeitraum trotzdem relativ große Mengen an Mykotoxinen den Tieren verabreicht werden, was oft zu schweren Schädigungen führt (vgl. "Mycotoxins in Food", P. Krogh Edt., Academic Press, New York, 1987). Die Trichothecene liefernden Pilze befallen im allgemeinen das Getreide schon am Feld, doch können sie auch bei unsachgemäßer Lagerung des Getreides (z. B. kühl und feucht) weiterhin aktiv bleiben. Die Lagerungsbedingungen kann man eventuell steuern, nicht hingegen den Feldbefall, da dieser auch stark von den klimatischen Bedingungen abhängt.

35 Ein mit Mykotoxinen stark kontaminiertes Erntegut ist kaum noch zu verwenden und führt zu großen wirtschaftlichen Schäden. Im besonderen gilt dies auch für Mais und Weizen, welche in großen Mengen in der Futtermittelindustrie eingesetzt werden. Wie Untersuchungen zeigten (Hart und Braselton, J. Agric. Food Chem. 31, 657 (1983)), kommt es beim Trockenmahl-Vorgang von Weizen, der z. B. mit DON kontaminiert war, wohl zu einer partiellen Trennung von DON-reicheren und DON-ärmeren Mehlen und Schrotten, doch bleibt jedenfalls DON im Endprodukt. Gleiches gilt auch für Maisprodukte.

40 Trichothecene sind chemisch relativ stabil, im besonderen die toxophore Gruppe, das 12, 13-Epoxid. So zersetzt sich z. B. das Deoxynivalenol (DON) auch bei Koch-, Brat- und Backbedingungen wie auch beim Autoklavieren und bei Dampfbehandlungen (Toasten, Pelletieren, Extrudieren) kaum und bleibt somit auch in einem aufbereiteten Futter- oder Nahrungsmittel bestehen. Das heißt, es gelingt dieserart keine Detoxifikation. (vgl. A. El-Banna et al., J. of Food Protection 46 (6) (1983)). Trichothecene, die eine Estergruppe enthalten, werden 45 in alkalischem Milieu in die entsprechenden Alkohole umgewandelt, doch die Toxizität der solcherart erhaltenen Abbauprodukte ist zumeist hoch und erfährt über diesen Abbaupfad kaum eine Verminderung (vgl. "Mycotoxins in Food" und Zitate darin).

Da in den letzten Jahren erst in vollem Maße erkannt wurde, daß speziell DON und auch 3-AcDON in bisher unbekannt hohen Konzentrationen auf Mais und anderen Getreiden auftritt, kommt der Untersuchung der Produkte hinsichtlich des DON-Gehaltes vermehrte Bedeutung zu und die gesetzgebenden Behörden in den verschiedenen Ländern beginnen darauf zu reagieren. Noch gibt es keine bindende Höchstmengen-Verordnungen für Trichothecen Mykotoxin Gehalte. Doch basierend auf toxikologischen Daten (vgl. "Mycotoxins in Food", Kapitel 6 "Trichothecenes in Food") wird empfohlen, daß z. B. die Werte für DON 2 ppm (1 ppm) und die für Nivalenol 0,2 ppm nicht überschritten werden sollten. Da Kleinkinder und Kinder wesentlich empfindlicher auf Mykotoxine reagieren, ist für Kindernahrung die Grenze wesentlich tiefer anzusetzen. Gleiches gilt für Futtermittel die bei Jungtieren zum Einsatz kommen, wobei hier auch die Langzeitfuttermittelaufnahme zu beachten ist. Inwieweit die Trichothecene eine Wirkungssteigerung durch andere Mykotoxine, oder vice versa, erfahren, ist noch weitgehend ungeklärt, doch wird man sich des eventuell potenzierten Gesundheitsrisikos bewußt.

Aus oben angeführten Gründen kommt der Entwicklung von Verfahren zur Reduzierung des Mykotoxingehalts auf Getreiden und in der Folge Getreideprodukten erhöhte Bedeutung zu.

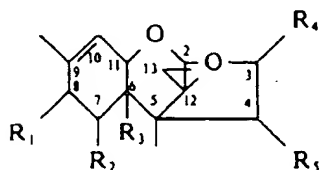
60 Auf Grund der hohen Toxizität von Mykotoxinen vom Aflatoxin Typ, welche Stoffwechselprodukte von Lagerpilzen (z. B. Aspergillus Arten) darstellen, stand zunächst die Methodenentwicklung zur Entgiftung von Aflatoxin-haltigen Produkten, wie z. B. dem Erdnußschrot, Mais und anderen Getreiden im Vordergrund. Basierend auf der chemischen Struktur von Aflatoxinen (enthalten einen Laktoneinring) erwiesen sich schlußendlich 65 Verfahren, die eine Behandlung des Gutes mit einem Amin (z. B. Ammoniak oder Monomethylamin) in stark alkalischem Milieu (z. B. mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ oder NaOH) bei hoher Temperatur (z. B. 100°C) und unter Druck (z. B. 3 bis 10 Bar) über eine halbe bis mehrere Stunden als zielführend (vgl. I. Apelt, Die Mühle + Mischfüttertechnik, 126. Jahrgang, Heft 30, 435 (1989)). Diese stark alkalische Behandlung von Getreide bzw. Nußschrot mit

Aminzusatz (Ammoniak bzw. Methylamin) und einer eventuellen weiteren Zuhilfenahme von Formaldehyd (Verfahren in Frankreich derzeit in Anwendung) ist der bisher einzig relativ sichere und gangbare Weg zur Detoxifikation von Aflatoxinen.

Wie Arbeiten beschreiben, gelingt nun unter diesen Bedingungen auch die Detoxifikation von Fusarientoxinen, wie T-2 Toxin Diacetoxyscirpenol und Zeralenon (vgl. J. Bauer et al., Tierärztl. Umschau 42, 70–77 (1987)). Im Rahmen eines Symposiums "Unerwünschte Stoffe in Futtermittel, Mykotoxine in Getreide und Futtermittel – Maßnahme zur Beseitigung" Braunschweig 30/31.10.1990 (vgl. IFF/Informationsdienst Nr. 224/1990) wurde berichtet, daß bei der Alkali/Aminbehandlung von Getreiden unter Druck und bei 95°C auch das Fusarientoxin Deoxynivalenol (DON) weitgehend beseitigt werden kann.

Aus dem vorliegenden Stand der Technik ergibt sich, daß eine Detoxifikation der Mykotoxine, wie Aflatoxin B₁, T-2 Toxin, Diacetoxyscirpenol, Deoxynivalenol und Zeralenon (einem ebenfalls relativ häufig vorkommenden Mykotoxin auf Getreide) weitgehend gelingt, wie bei Überprüfungen der Materialien nach physikalisch-chemischen wie auch biologischen Verfahren zeigen. Die Behandlungsbedingungen (stark alkalisch, Aminzugabe, ev. Formaldehyd Zugabe, hohe Temperatur T > 90°C und Druck) sind chemisch gesehen jedoch als drastisch zu bewerten. Die Qualitätsbewertung der solcherart behandelten Getreide- und Futtermittelproben wurde nicht beschrieben (verschwiegen), doch tritt nach eigener Erfahrung sicher eine teilweise Farb-, Geschmacks- und Qualitätsveränderung der Produkte ein.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein Verfahren zur Detoxifikation von Mykotoxinen der Trichothecen-Reihe unter schonenden Bedingungen zu schaffen, wobei die entgifteten Getreideprodukte hinsichtlich ihres Aussehens, Geschmacks und Nährwertes weitestgehend unverändert sein sollen. Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß man durch Ultraschallbehandlung der Getreidekörner, wie Mais, Weizen, Gerste, Hafer, Roggen, aber auch Getreideschrote und Grieße derselben, in wäßrigem Milieu, eine weitgehende Detoxifikation der Trichothecen-Mykotoxine der allgemeinen Formel I,



in der R₁ bis R₅, wie am Anfang definiert, je nach dem Toxin zu spezifizierende Substituenten sind, erreicht. Auch sind Anzeichen dafür gegeben, daß das Verfahren auch eine allgemeine Gültigkeit für die Dekontamination und/oder Detoxifikation von den verschiedenen Substanzen hat, wie im Anspruch 13 angegeben.

Das erfindungsgemäße Verfahren betrifft die zeitlich gepulste oder ungepulste 5- bis 200-minütige Ultraschallbehandlung von Getreidekörnern oder -schroten, die in einer wäßrigen Suspension in einem Temperaturbereich zwischen 12° und 50°C vorliegen, wobei dem Wasser gegebenenfalls ein Alkohol, wie z. B. Methanol, Ethanol, Glycerin oder Polyethylenglykol als Benetzungs- und/oder Reaktionspartner und Reaktionsbeschleuniger zugegeben wird. Auch die Zugabe von geringen Mengen Alkalien, wie z. B. Ga(OH)₃ oder NaHCO₃ oder Na₂CO₃ zwischen 0,2 und 2% bzw. Ammoniak oder Methylamin zwischen 0,1 und 0,5%, oder Säuren (z. B. verdünnte Chlorwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Essigsäure oder Propionsäure) ist in manchen Fällen vorteilhaft.

Im Ultraschallbad, das heißt in der wäßrigen Lösung, entstehen über die dort eingebrachten Ultraschallwellen Mikrocavitationen bzw. Cavitations-Bläschen. Dies sind Bereiche, in denen quasi Lösungsmittel-Implusionen stattfinden, welche von örtlichen Druckwellen (bis zu 100 kPa) begleitet sind, wobei in den Mikrocavitationszellen auch vorübergehend Temperaturen bis zu 1700°C auftreten können. Das Gesamtlösungsmittelbad erwärmt sich somit im Verlauf der Ultraschallbehandlung jedoch erst bei langer Beschallungsdauer auf Temperaturen über 70°C. Mit dem physikalischen Phänomen der Mikrocavitations-Bläschen werden nun zwei verschiedene Prozesse ausgelöst. Einerseits kommt es durch die "Druckwellen" zu einer korrosionsartigen Streßung der Oberfläche von Partikeln, was mit der Ablösung von Oberflächenmaterialien verbunden ist. Dies wird z. B. bei der Reinigung von Geräten im Ultraschallbad ausgenutzt, eine heutzutage verbreitete Technik für die Entkeimung von medizinischen Geräten. Da die Fusarienpilze, deren sekundäre Stoffwechselprodukte ja die Mykotoxine darstellen, bevorzugt an der Außenseite der Getreidekörner anhaften, gelingt nun mittels Ultraschallbehandlung eine weitgehende Ablösung der Pilze und Sporen und deren Dispersion in Lösung bzw. ein Inlösungsbringen der Mykotoxine.

Parallel zu diesem physikalischen Prozeß werden über die Ultraschallwellen bzw. den Mikrocavitationsprozessen chemische Prozesse "in Gang gebracht", die oft von den üblichen Reaktionswegen abweichen und in das Spezialgebiet der sogenannten "Sono-Chemie" einzureihen sind (vgl. "Ultrasound in Synthesis", S.V. Ley und C.M. Low Edt., Springer Verlag, New York (1989)).

Im Fall der Trichothecene werden nun sichtlich chemische Reaktionen ausgelöst, welche zu einer Molekülveränderung der Toxine führt, wobei wahrscheinlich auch eine Reaktion am 12, 13-Epoxid stattfindet und somit der toxophore Epoxidring zerstört wird. Aus der Chemie von Epoxiden weiß man, daß diese sowohl im Sauren als auch im Basischen, z. B. mit primären oder sekundären Aminkomponenten, zu reagieren vermögen. Als weitere Reaktionspartner können aber auch Alkohol-Gruppen oder Wasser, welche über radikalische Reaktionsmechanismen die bevorzugt sauer katalysiert sind, dienen. Die üblichen Reaktionsbedingungen hierfür sind immer Hitze und Druck bei relativ langer Reaktionszeit.

Überraschenderweise kann man nun auch über die Ultraschall-Badbehandlung von Lösungen derartiger

Reaktionen einleiten. Die bei der Ultraschallbehandlung von in Wasser aufgeschlämmten Getreidekörnern und Getreideschroten in geringen Mengen (um 0,1% bei Mais) jedoch rasch in wäßrige Lösung gebrachten Getreideinhaltsstoffe fungieren nun ihrerseits als Reaktionspartner mit z. B. dem 12,13-Epoxid der verschiedenen Trichothecen Mykotoxine und bewirken dessen chemische Veränderung. Derart wird eine chemische Detoxifikation erreicht. Als bevorzugte "Sono Chemie" Reaktionstemperatur in wäßrigem Milieu erweist sich der Temperaturbereich zwischen 20° und 50°C, wobei der Zusatz von protischen organischen Lösungsmitteln, bevorzugt Methanol oder Ethanol, oft reaktionsbeschleunigend wirkt. Im gegenständlichen Verfahren dient der Lösungsmittelzusatz nicht nur der Reaktionsbeschleunigung, sondern auch der verbesserten Benetzbarkeit der Getreideproben, um damit auch eine verbesserte Ablösung der toxischen Komponenten von der Probenoberfläche und deren Suspension bzw. Lösung im Wasser zu gewährleisten. Die Zugabe von Alkalien und/oder Aminen bzw. Säuren zur Ultraschallbad-Reaktionslösung wirkt ebenfalls beschleunigend bzw. kann notwendig werden, wenn die in Lösung gehenden Getreideinhaltsstoffe (was von Art zu Art variiert) nicht jene Zusammensetzung und Konzentration aufweisen, um eine Detoxifikationsreaktion zu gewährleisten. Nach erfolgter Ultraschallbehandlung der Getreide bzw. Getreideschrote wird verfahrensgemäß das Getreidegut von der wäßrigen Behandlungslösung separiert, nochmals mit Wasser (eventuell mit Ultraschall) gewaschen und anschließend getrocknet.

Das beschriebene Gesamtverfahren der Detoxifikation von Fusarium-Mykotoxinen vom Trichothecen-Typ ist sehr schonend und sehr einfach. Es werden keine oder nur wenige lebensmittelverträgliche Hilfsreagenzien benötigt und die erhaltenen detoxifizierten Endprodukte sind in Aussehen, Geschmack und Qualität gleichwertig mit toxinarmen Getreide bzw. Getreideprodukten.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung, ohne sie einzuschränken.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen und Tabellen näher erläutert, ohne sie einzuschränken, wobei die Tabelle 1 die experimentellen Ergebnisse bei der Detoxifikation von Maiskörnern und Tabelle 2 den Zusammenhang zwischen Toxingehalt in Abhängigkeit von der Detoxifikationsdauer darstellen.

Beispiel 1

Detoxifikation von Maiskörnern, welche mit Deoxynivalenol (DON) kontaminiert sind.

1 kg trockene Maiskörner (Trocknungsgrad ca. 10% Restfeuchte) mit einer durchschnittlichen DON Kontamination von 400 ppb (400 µg/kg) werden in einem Ultraschallbad mit einer Wassermenge von 2 Litern, der 100 ml Ethanol beigegeben waren, unter kontinuierlichem Umwälzen der Körner während eines Zeitraumes von 90 min ultrabeschallt, wobei eine Pulsfolge von 10 min Schalldauer, 10 min Pause, 10 min Schalldauer usw. eingehalten wurde. Die Badtemperatur stieg dabei von anfänglich 20°C auf 40° bis 50°C und betrug im Mittel etwa 40°C. Nach Beendigung der Ultraschall-Behandlung wurden die Maiskörner von der Behandlungslösung abgesiebt, noch einmal mit H₂O gewaschen und getrocknet. Die detoxifizierten getrockneten Maiskörner wurden wie das Ausgangsmaterial hinsichtlich des DON-Gehaltes analysiert. Der Gehalt an DON betrug 30 ppb, was einem Detoxifikationsgrad von ca. 92% entspricht.

Diese Versuchsanordnung wurde fünfmal mit ähnlich belastetem Mais wiederholt und es zeigte sich, daß der Detoxifikationsgrad in allen Fällen bei über 90% lag.

Als Ultraschallbad diente in allen Versuchsreihen (Beispiele 1 bis 7) ein Bad der Firma Elma mit einem Ultraschallschwinger der Frequenz 35 kHz und einem 600 W Generator.

Die DON-Analytik der Maisproben wurde nach einer, in unserem Labor in Anlehnung an die Methoden von R.Kostianinen et al. (Arch. Environ. Contam. Toxicol. 18, 356 – 364 (1989)) und R.Black et al. (J. Chromatogr. 338, 365 – 378 (1987)) ausgearbeiteten Methode und Zuhilfenahme von GC-ECD Analytik durchgeführt, wobei die Methode eine Nachweisgrenze von ca. 5 ppb hat. Das Ergebnis wurde mittels GC-MS verifiziert.

Beispiel 2

Detoxifikation von Maiskörnern, welche mit Deoxynivalenol (DON) T-2 Toxin (T-2), HT-2 Toxin (HT-2), Diacetoxyscirpenol (DAS), 3-Acetyldeoxynivalenol (3-AcDON) und Triol kontaminiert wurden.

Vier Proben von je 150 g trockener Maiskörner (Grundbelastung 300 ppb DCH, 230 ppb 3-AcDOH, die anderen Trichothecen Toxine <5 ppb) wurden vor der Ultraschallbehandlung mit jeweils 500 ppb je genannten Toxins dotiert. Die vier Maiskörnerproben wurden separat in je einem Glaskolben, der in ein Ultraschallbad gehängt wurde, mit 300 ml Wasser, welches 20 ml Methanol enthielt, unter ständigem Rühren aufgeschlämmt und über 90 min zeitlich gepulst (10 min Intervalle) ultrabeschallt. Die Badtemperatur betrug durchschnittlich 35°C. Nach 90 min wurde die Ultraschallbehandlung (Dekontamination und Detoxifikation) abgebrochen. Von den Proben wurde nun nach Trennung der Körner von der Reaktionslösung, wobei kein Waschvorgang durchgeführt wurde, eine quantitative Trichothecen Analyse für die angegebenen Toxine, sowohl in den Körnern als auch in der Behandlungslösung, durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß ein Detoxifikationsprozeß von Trichothecen Toxinen auf Getreide mit einfacher Ultraschallbehandlung zu erzielen ist. Die Dotierung der Lösung mit den verschiedenen Trichothecen Toxinen wurde bewußt extrem hoch gewählt, um den Gesamtwirkungsgrad zu verdeutlichen. Daß die Analyse des Maises Restgehalte an Toxinen aufweist, hat zwei Ursachen: a) Der trockene Mais (ca. 10% Feuchte) nimmt bei der Ultraschallbehandlung Wasser auf und erreicht nach Abtrennung der Lösung einen Feuchtegehalt von ca. 25%. Über diesen Quellvorgang kommen eventuell kleine Mengen der sehr hohen Toxinmengen, welche in

Lösung vorlagen, in das Korninnere und entziehen sich so der Detoxifikation, da die Ultraschallwellen kaum ins Korninnere gelangen, um dort eine sono-chemische Reaktion auszulösen.

b) Im gegenständlichen Versuch wurde kein Waschvorgang der Maiskörner nach Abtrennung von der Toxinlösung durchgeführt und so kann ein Restgehalt an Toxinen am Maiskorn verbleiben. Ein Waschvorgang erweist sich aus diesem Befund als sinnvoll. Auch könnte die "Detoxifikationskraft" der alkoholischen Maisaufschlammung langsam erschöpft werden, um einen Gesamttoxingehalt über 3000 ppb quantitativ zu entgiften. Der Detoxifikationsgrad der verschiedenen Toxine am Mais und in der Lösung betrug zwischen 75% und 95%.

Beispiel 3

Dekontamination und Detoxifikation von Maiskörnern, welche mit Deoxynivalenol (DON) belastet waren in Abhängigkeit von Ultraschall-Behandlungsdauer.

1 kg trockene Maiskörner, welche eine durchschnittliche Ausgangsbelastung von 600 ppb DON aufwiesen, wurden in 2 l Leitungswasser, das 50 ml Ethanol enthielt, aufgeschlämmt und unter leichtem Umwälzen zeitgepulst ultrabeschallt (10 min Ultraschall, 10 min Pause, 10 min Ultraschall usw.). Nach 5, 10, 30, 50, 70, 90, 110, 130 und 150 min wurden Mais- und Ultraschalllösungs-Proben gezogen, separat analysiert und die Werte in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß der Dekontaminationsprozeß von Trichothecen Toxinen, im gegenständlichen Fall DON, auf Getreide (Mais) parallel zum Detoxifikationsprozeß verläuft, jedoch nicht mit gleicher Geschwindigkeit. Der Dekontaminationsprozeß über Ultraschallbehandlung der Getreideprodukte (Mais) verläuft zunächst schneller. Die Reduktion des Toxingehalts (DON-Gehalts) scheint, wie zumeist gefunden, relativ zum Anfangsgehalt welcher vor der Ultraschallbehandlung gegeben war, zu sein, wobei man nach 70 min bereits eine Detoxifikation des Getreidekorns (Mais) von ca. 90% erreicht. Nach 10 min Ultraschallbehandlung erzielt man bei dieser Versuchsanordnung bereits eine Reduzierung des Toxingehalts (DON) von 50%.

Bei einer Verbesserung des Ultraschallbehandlungsprozesses bzw. dessen technologische Optimierung (hohe Mikroakavitationsdichte in der Nähe des Getreidekorns und weitgehende Vermeidung der frühzeitigen Dämpfung der Ultraschallwellen) kann der Detoxifikationsgrad über Ultraschallbehandlung sicher noch optimiert werden. Auch wird trockenes Getreide eventuell eine andere (langsamere) Detoxifikationskinetik aufweisen als z. B. erntefeuchtes Getreide. Die relative Abnahme des Gehalts an Deoxynivalenol (DON), welches quasi als Leitsubstanz für eine Kontamination von Getreide (Mais) mit Trichothecen Mykotoxinen anzusehen ist, scheint ein gutes Maß für den Grad der Gesamtdetoxifikation von Trichothecen Mykotoxinen über die Ultraschallbehandlung zu sein.

Die gewaschenen und getrockneten Maiskörner waren einwandfrei hinsichtlich Aussehen, Geschmack und Qualität.

Beispiel 4

Detoxifikation von Weizenkörnern, welche mit Deoxynivalenol (DON) und 3-Acetyldeoxynivalenol (3-AcDON) kontaminiert waren.

300 g ganze Weizenkörner, welche eine mittlere Belastung von 200 ppb DON und 110 ppb 3-AcDON aufwiesen, wurden in 400 ml Wasser, dem 10 g $\text{Ca}(\text{CH}_3)_2$ und 1 ml Methylamin zugegeben waren, aufgeschlämmt und 70 min zeitgepulst (10 -minütig) in einem Bad ultraschallbehandelt. Die mittlere Ultraschallbadtemp. betrug ca. 30°C. Der Gehalt an DON und 3-AcDON in den abgetrennten und gewaschenen Weizenkörnern fiel um ca. 95% von den Ausgangswerten.

Beispiel 5

Detoxifikation von Hafer, welcher mit Deoxynivalenol (DON) kontaminiert war.

150 g trockene ganze Haferkörner mit einer Grundbelastung an DON von 60 ppb wurden in 200 ml Leitungswasser, dem 30 ml Ethanol und 0,3 ml konz. wäßrige Ammoniaklösung beigegeben wurden, aufgeschlämmt und zeitlich ungepulst für eine Dauer von 70 min ultrabeschallt. Die mittlere Ultraschallbadtemp. betrug ca. 35°C. Der DON-Gehalt in den mit Wasser gewaschenen Haferkörnern sank um über 90% ab.

Beispiel 6

Detoxifikation von Maisschrot, welcher eine durchschnittliche Deoxynivalenol (DON) Belastung von 550 ppb aufwies, unter Zusatz von Essigsäure.

200 mg trockener Maisschrot kam in 500 ml Leitungswasser, dem 20 ml Ethanol und 2 ml Essigsäure zugegeben wurden, zur Aufschlammung. Nach zeitgepulster Ultraschallbehandlung über eine Dauer von 50 min und Abtrennung des Maisschrotes und Nachwaschen des Schrotes mit Wasser gefolgt von Trocknung bei 50°C, erhielt man eine Getreideprodukt, das sich hinsichtlich Aussehen, Geschmack und Güte vom unbehandelten kaum unterschied. Der DON Gehalt sank jedoch auf unter 10% durch die Detoxifikationsbehandlung mit Ultraschall.

Beispiel 7

Zelltoxikologische Überprüfung der Detoxifikation von DON in wäßrigen Lösungen.

Eine wäßrige Stammlösung von DON (1000 ppb) wurde in 7 Teile aliquot geteilt, wobei 5 Aliquote mit
 5 entweder Ammoniak, Natriumbicarbonat, Natriumcarbonat, Hydrogenwasserstoffsäure und Propionsäure ver-
 setzt wurden. Die pH-Werte der Lösungen lagen zwischen pH 3 und pH 10. Diese Lösungen sowie eine wäßrige
 Kontrollprobe wurden einer zeitlich ungelulsten Ultraschallbehandlung für eine Dauer von 20 min ausgesetzt.
 Nach Abschluß der Behandlung wurden die Lösungen auf annähernd pH 7 gepuffert und einem Zelltoxtest
 10 zugeführt. Die Auswertung erbrachte, daß eine Detoxifikation des DON über die Ultraschallbehandlung unter
 Chemikalienzufuhr (sauer oder basisch) eintrat; eine Ultraschallbehandlung ohne Chemikalienzusatz führt zu
 keiner Detoxifikation. Eine quantitative Bewertung derartiger Tests ist schwierig.

Beispiel 8

15 Zelltoxikologische Überprüfung der Detoxifikation von DON in Maisextrakten, wie sie bei der Ultraschallbe-
 handlung anfallen.

Von 500 g fein gemahlenden Maiskörnern, die eine durchschnittliche DON-Belastung von 800 ppb aufwiesen,
 wurde ein wäßrig-alkoholischer "Extrakt" hergestellt, wobei jede Ultraschallbehandlung vermieden wurde.
 Ausrührzeit 50 min; vorsichtige Einengung des Extraktes auf die Hälfte, um den gesamten Alkohol zu entfernen.

20 Parallel hierzu wurde vom selben Mais eine Detoxifikation gemäß Beispiel 1 durchgeführt. Gemäß DON-Ana-
 lyse des getrockneten Endmaterials betrug der Detoxifikationsgrad 90%.

Von dem gemahlenden detoxifizierten Mais wurde nun wie oben ein Extrakt hergestellt und in zwei Teile
 geteilt. Ein Teil verblieb bei einem DON-Gehalt von 80 ppb, wohingegen der zweite Teil mit einer wäßrigen
 DON-Stammlösung wiederum auf 800 ppb aufdotiert wurde.

25 Mit all diesen Extrakten wurde ein Zelltoxtest durchgeführt. Es zeigte sich eindeutig, daß die Abnahme des
 DON-Gehaltes um 90% auch dessen Detoxifikation bedeutet. Die Vermutung, daß bei der Ultraschallbehand-
 lung von Getreidekörnern unter den gegebenen Bedingungen chemische Reaktionen, die den taxophoren
 12,13-Epoxidring angreifen, eventuell ausgelöst werden, sollte hiermit eine Bestätigung finden.

30 Bereits die Beispiele 7 und 8 zeigen, daß die Erfindung nicht nur für die Dekontamination und Detoxifikation
 von Getreiden angewendet werden kann, sondern auch zur Behandlung von kontaminiertem Abwasser (Beispiel
 7) oder von Nährstoffdispersionen in Form von Maisextrakten (Beispiel 8).

Weiterhin gibt es Anzeichen dafür, daß das hier vorgeschlagene Detoxifikationsverfahren mittels Ultraschall-
 behandlung eine allgemeine Behandlungsmethode darstellt mit weitreichenden Anwendungsmöglichkeiten.

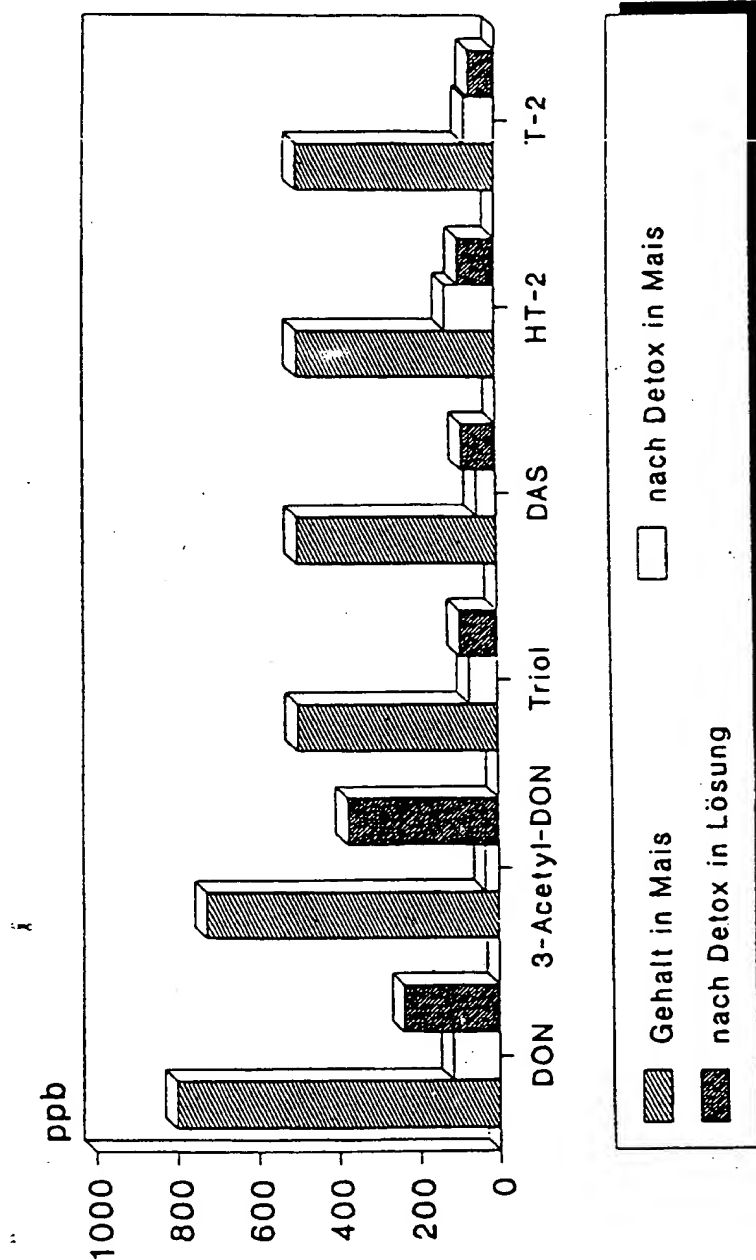
35 Außerdem scheint es nach dem derzeitigen Stand der Untersuchungen, daß das Verfahren ohne weiteres im
 industriellen Maßstab durchgeführt werden kann. Hierfür scheinen zwei Möglichkeiten erfolgversprechend zu
 sein. Einerseits kann man die zu behandelnde Substanz mit der erwünschten Flüssigkeit in einen großen Behälter
 geben und die Ultraschallenergie in diesen Behälter einstrahlen, um dort eine Mikrokavitation zu verursachen.
 Hierbei ist es wünschenswert, die Flüssigkeit mit Getreide umzurühren, damit das Getreide in der Flüssigkeit in
 schwebender Form vorliegt, so daß die Ultraschallgeneratoren nicht durch Getreidemassen gedämpft werden,
 40 und auch sicherzustellen, daß die erwünschte Mikrokavitation in erwünschtem Maße eintritt, beispielsweise
 durch das gesamte oder durch ein wesentliches Teil des behandelten Volumens.

Zweitens besteht die Möglichkeit, die Flüssigkeit mit der darin enthaltenen Substanz durch einen Behand-
 lungskanal strömen zu lassen und in diesem mittels Ultraschallenergie zu behandeln. Diese Behandlung kann von
 einem einzigen Ultraschallgenerator ausgehen oder es können mehrere Ultraschallgeneratoren bzw. Ultra-
 45 schallspitzen entlang und/oder quer zum Kanal angeordnet werden. Um eine ausreichende Behandlungsdauer
 im Kanal zu erreichen, ohne daß der Kanal zu lang wird, ist es günstig die Flüssigkeit mit der darin enthaltenen
 Substanz mehrfach durch den Kanal strömen zu lassen. Auch hier soll die Ultraschallfrequenz, die eingestrahlte
 Energiemenge und die genaue Auslegung des Kanals so erfolgen, daß die erwünschte Mikrokavitation eintritt.

50 Zur Ultraschallfrequenz ist im allgemeinen zu sagen, daß dies unkritisch ist, sie muß nur im Ultraschallbereich
 liegen. Dieser erstreckt sich von ca. 10 Hz bis 10 MHz, wobei der Bereich bis zu 100 kHz als Leistungultraschall-
 bereich gilt und der weitere Bereich bis zu 10 MHz vor allem 1 - 10 MHz als Hochfrequenz-Ultraschallbereich
 bezeichnet wird.

Die eingestrahlte Energiemenge scheint auch unkritisch zu sein, wesentlich ist nur, daß die erwünschte
 Mikrokavitation eintritt. Ggf. sind die Ultraschallfrequenz und die verwendete eingestrahlte Energiemenge an
 55 die konkrete Auslegung des Behandlungsbehälters bzw. Kanals und sonstigen Gegebenheiten anzupassen. Dies
 kann experimentell erfolgen. Im allgemeinen gilt, je niedriger die Frequenz, desto weniger Leistung ist erforder-
 lich, um die Kavitationswirkung bei niedrigen Frequenzen zu erzeugen, so daß aus diesem Grunde niedrigere
 Frequenzen zu bevorzugen sind. Die aufgenommene Leistung der Ultraschallgeneratoren hat einen Einfluß auf
 das Volumen der Flüssigkeit, in dem die Kavitation erzeugt werden kann.

Detoxifikation von Trichothecenen in Mais nach 90 min Detoxifikation



natürlich kontaminierter Mais gespickt
mit je 500 ng Trichothecen-Toxin

TABELLE 1

Toxingehalt in Abhängigkeit von der Detoxifikationsdauer

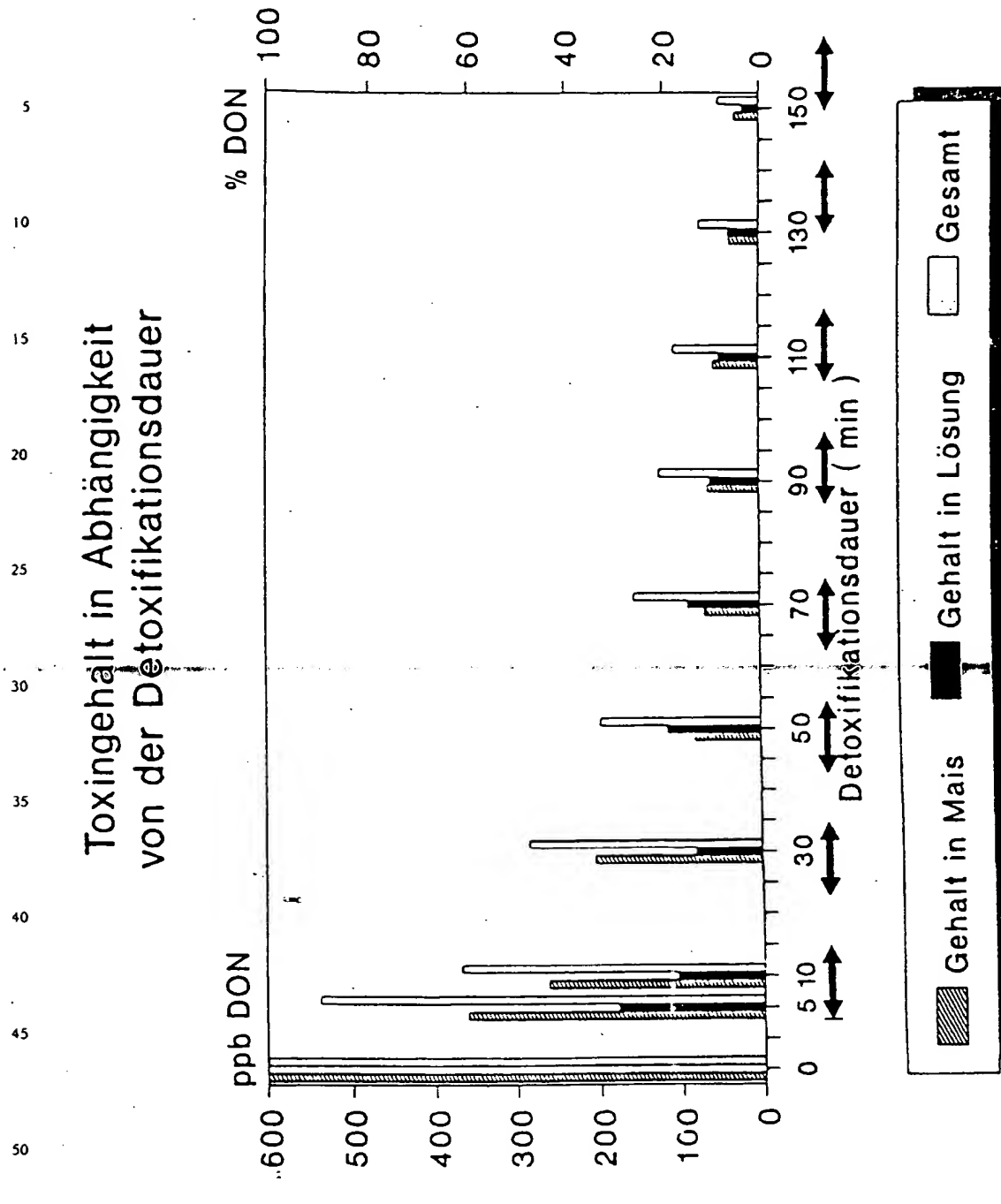
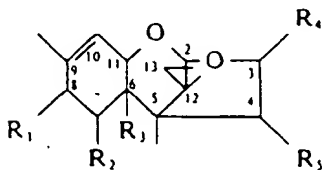


TABELLE 2

Ultraschallpuls 35 kHz

Patentansprüche

1. Verfahren zur Dekontamination und Detoxifikation von Getreide, welches mit Fusarien-Mykotoxinen der Trichothecen Reihe der allgemeinen Formel I,



wobei durch Substitutionsvariation der Rest R_1 bis R_5 die verschiedenen Trichothecen-Mykotoxine, wie

- z. B. T-2 Toxin (T-2), HT-2 Toxin (HT-2), Diacetoxyscirpenol (DAS), Monoacetoxyscirpenol, Neosolanin, Nivalenol (NIV), Deoxynivalenol (DON), 3-Acetyldeoxynivalenol (3-AcDON), T-2 Tetraol, Scirpentriol, Fusarenol, Crotocin, Satratoxin H etc., zu beschreiben sind, belastet ist, dadurch gekennzeichnet, daß das Getreide einer Ultraschall-Behandlung in wäßrigem Milieu unterzogen wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Getreide, Mais, Weizen, Gerste, Hafer und Roggen, oder Schrote und Grieße davon, darstellt. 5
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das wäßrige Milieu reines Leitungswasser oder ein Gemisch aus Leitungswasser mit Chemikalien, welche eine Hydroxylgruppe haben, darstellt.
4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Chemikalien Methanol, Ethanol, Propanol, Glycerin oder Polyethylenglycol, bevorzugt Methanol oder Ethanol zwischen 2% und 10%, darstellen. 10
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß dem wäßrigen Milieu Alkalien und/oder Amine zugegeben werden.
6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Alkalien Kalziumhydroxyd, Natriumhydroxyd, Natriumbicarbonat, Natriumcarbanat und die Amine Ammoniak, oder Methylamin darstellen. 15
7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß dem wäßrigen Milieu Säuren zugegeben werden.
8. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Säuren Mineralsäuren wie HCl, H₂SO₄ oder Phosphorsäure, oder organische Säuren, wie Essigsäure oder Propionsäure, darstellen.
9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Ultraschallbehandlung des aufgeschlammten Getreides ungepulst oder zeitlich gepulst über eine Zeitdauer von 5 min bis 200 min verläuft. 20
10. Verfahren nach Anspruch 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Temperatur der ultrabeschallten Behandlungslösung zwischen 12° und 50° C beträgt.
11. Verfahren nach Anspruch 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das detoxifizierte Getreide von der Ultraschall-Lösung abgetrennt und nochmals mit Wasser, mit oder ohne Ultraschallbehandlung, nachgewaschen wird. 25
12. Verfahren zur Dekontamination bzw. Detoxifikation von chemische Substanzen bzw. Nährstoffe und/oder Getreide enthaltenden Flüssigkeiten, insbesondere wäßrigen Flüssigkeiten, bei dem diese mit Ultraschallenergie behandelt werden wobei vorzugsweise die Dekontamination und Detoxifikation durch Mikrokavitation erreicht wird. 30
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren in einem industriellen Maßstab durchgeführt wird.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren in einem großen Behälter durchgeführt wird mit einem oder mehreren Ultraschallenergie in den Behälter abstrahlenden Ultraschallschwinger bzw. Schwingern, wobei die Ultraschallfrequenz, die eingestrahlte Energiemenge bzw. die Energiedichte und die Auslegung des Behälters so gewählt sind, daß Mikrokavitation in der im Behälter vorhandenen Flüssigkeit erreicht wird, wobei die Flüssigkeit und in dieser enthaltenen zu behandelnden Substanzen bzw. Getreide, vorzugsweise in Bewegung gehalten werden. 35
15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß es in einem industriellen Maßstab durchgeführt wird, wobei die Flüssigkeit mit der darin zu behandelnden Substanz beispielsweise mit dem Getreide entlang einem Behandlungskanal an einen Ultraschallgenerator bzw. an mehreren Ultraschallgeneratoren vorbeifließt und ggf. diesen Behandlungskanal mehrmals durchfließt, wobei die Ultraschallfrequenz, die abgestrahlte Energiemenge bzw. die Energiedichte und/oder die Ausführung des Kanals so gewählt sind, daß Mikrokavitation in der Flüssigkeit erreicht wird. 40
16. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach einem oder mehreren der vorhergehenden Patentansprüche. 45

50

55

60

65

— Leerseite —